

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO - MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

PATOBIOLOGIJA T-LIMFOMA
PATHOBIOLOGY OF T-LYMPHOMA
SEMINARSKI RAD

Lucija Ačkar

Preddiplomski studij molekularne biologije
(Undergraduate Study of Molecular Biology)

Mentor: doc. dr. sc. Petra Korać

Zagreb, 2015.

Izjavljujem da sam ovaj rad izradila samostalno koristeći stečena znanja tijekom studija i navedenu literaturu.

Zahvaljujem doc. dr. sc. Petri Korać na stručnoj pomoći prilikom izrade ovog rada.

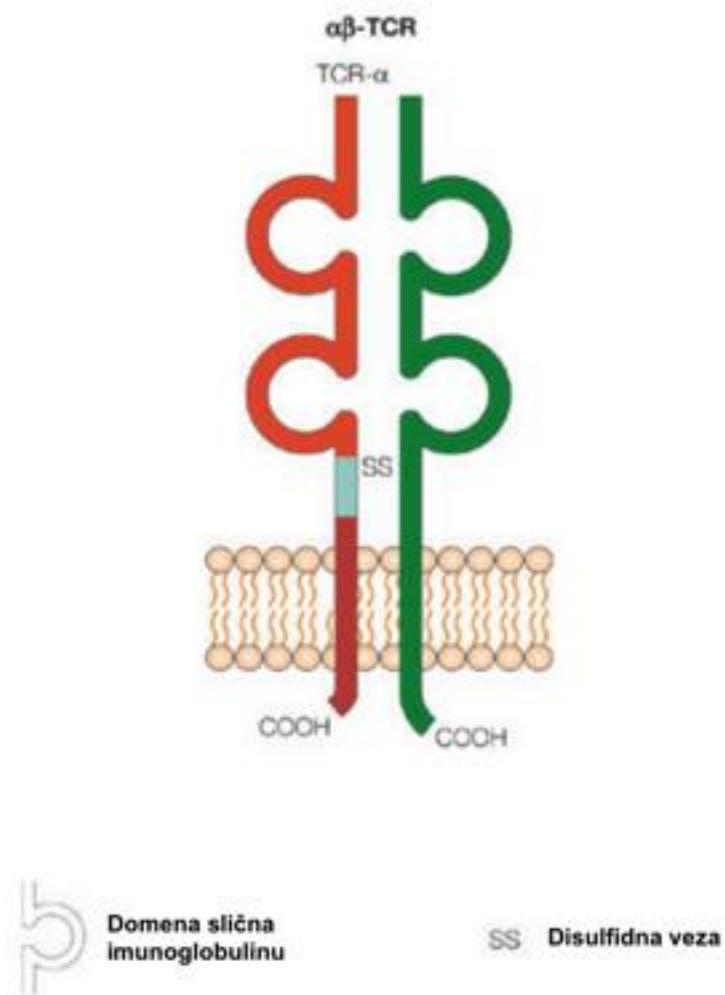
Lucija Ačkar

Sadržaj

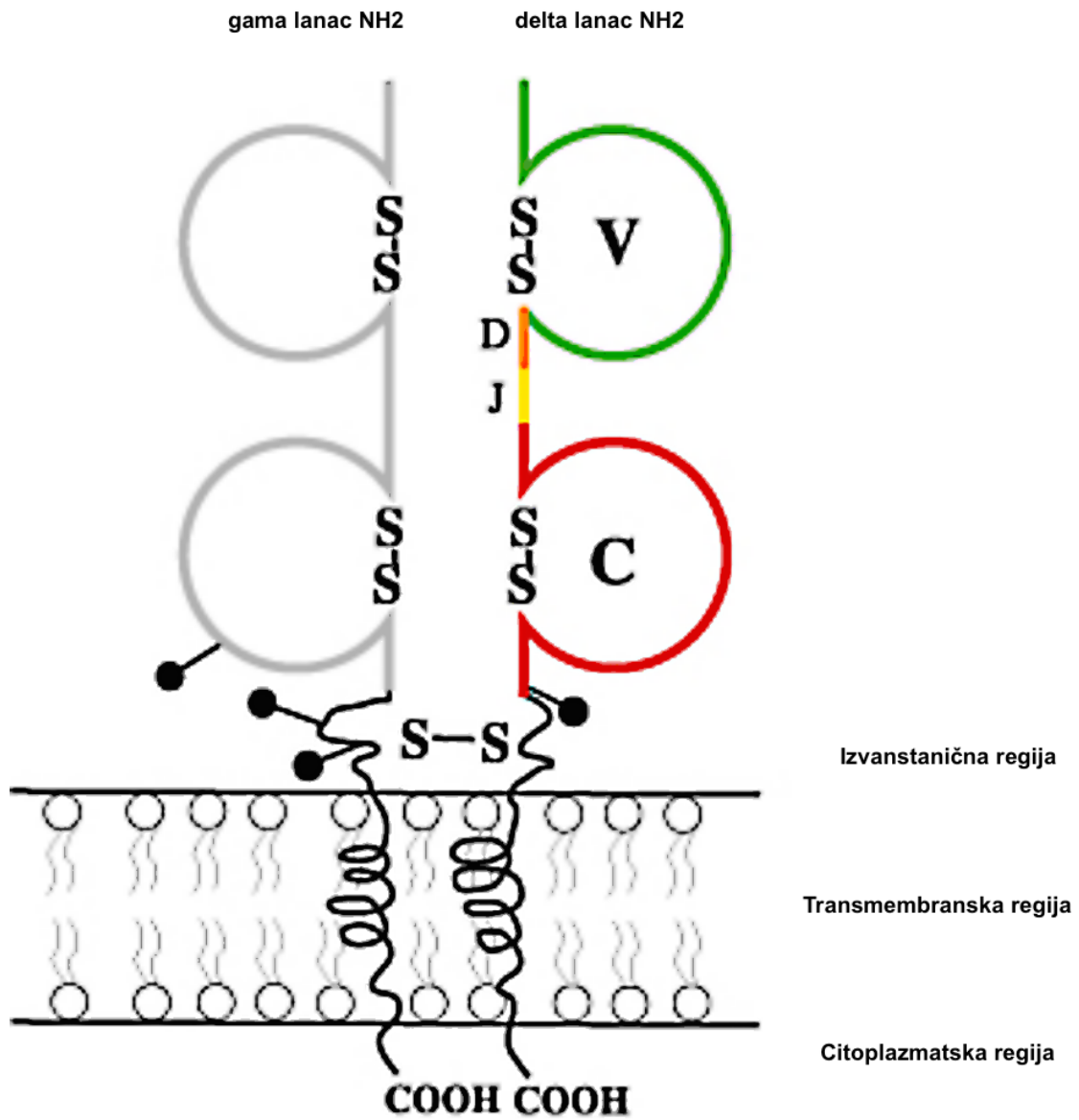
Sadržaj	1
1. UVOD	1
2. SAZRIJEVANJE LIMFOCITA T	6
SAZRIJEVANJE LIMFOCITA T- $\alpha\beta$	6
SAZRIJEVANJE LIMFOCITA T- $\gamma\delta$	7
3. KLASIFIKACIJA TUMORA HEMATOPOETSKIH I LIMFNIH TKIVA SVJETSKE ZDRAVSTVENE ORGANIZACIJE	8
LIMFOMI UROĐENOG IMUNOSNOG SUSTAVA	8
LIMFOMI ADAPTIVNOG IMUNOSNOG SUSTAVA	9
4. GENETIKA	10
5. PODJELA LIMFOMA ZRELIH T I NK STANICA	11
6. EPIDEMIOLOGIJA	17
7. ZAKLJUČAK	18
8. LITERATURA	19
9. SAŽETAK	21
10. SUMMARY	22

1. UVOD

Imunosni sustav je sustav primarnih i sekundarnih organa koji štiti organizam od napada stranih mikroorganizama, njihovih toksina, ali i vlastitih izmijenjenih i istrošenih stanica. T–limfociti su stanice specifične obrane imunostnog sustava. T–stanični receptor (TCR, od eng. *T-cell receptor*) je heterodimer te s obzirom na građu, tj. vrstu polipeptidnih lanaca razlikujemo dvije vrste, TCR $\alpha\beta$ (sadrži lance α i β) (Slika 1.) i TCR $\gamma\delta$ (sadrži lance γ i δ) (Slika 2.). Lanci su međusobno povezani disulfidnim vezama, a svaki lanac se sastoji od izvanstaničnog, transmembranskog i kratkog citoplazmatskog dijela. U izvanstaničnom dijelu lanca se razlikuje varijabilna regija i konstantna regija. Citoplazmatski odsječci su vrlo kratki i nedostadni za uspješno provođenje aktivacijskog signala u stanicu. To je funkcija molekula koje zajedno s receptorom čine T–stanični receptorski kompleks, a u njih se ubrajaju molekule kompleksa CD3 i molekula ζ . Kompleks CD3 tvori heterodimere, $\epsilon:\gamma$ i $\epsilon:\delta$ (γ , δ , i ϵ su proteini imunoglobulinske superobitelji koji sadrže izvanstaničnu imunoglobulinsku domenu), dok se lanci ζ (ζ je protein imunoglobulinske superobitelji koji omogućuje prijenos signala u stanicu) međusobno udružuju u homodimere $\zeta:\zeta$. Funkcija polipeptidnih lanaca kompleksa CD3 i ζ jest prijenos signala u stanicu nakon što TCR veže specifični antigen. Te molekule imaju specifični aktivacijski slijed ITAM koji sudjeluje u aktivaciji tirozinskih kinaza i prijenosu aktivacijskog signala u stanicu. Koreceptori T–limfocita su molekule CD4 i CD8. To su polipeptidi koji se vežu za molekule glavnog kompleksa gena tkivne podudarnosti (MHC, od eng. *major histocompatibility complex*) izvan mjesta vezanja receptora i na taj način učvršćuju vezu receptora s kompleksom MHC i antigena. MHC geni se nalaze na 6. kromosomu i kodiraju za antigene MHC. Antigeni MHC se nalaze u različitim količinama na različitim stanicama organizma, a u čovjeka se taj sustav naziva HLA (od eng. *human leukocyte antigens*) jer je najprije otkriven na leukocitima. I geni i antigeni se dijele u tri funkcionalne skupine, gdje skupine I i II određuju molekule koje imaju ključnu ulogu u preradbi i predočavanju antigena. Skupina III sadrži gene za molekule koje sudjeluju u imunoreakciji, ali nemaju središnju imunoregulacijsku ulogu kao molekule skupine I i II. T–limfociti prepoznaju antigenske molekule spregnuto, tj. tako da jednim dijelom svojega receptora prepoznaje antigen, a drugim molekulu MHC što dovodi do prijenosa dodatnog aktivacijskog signala u stanicu. CD4 i CD8, u pravilu, ekspimiraju samo limfociti s receptorom vrste $\alpha\beta$ (Andreis 2004).

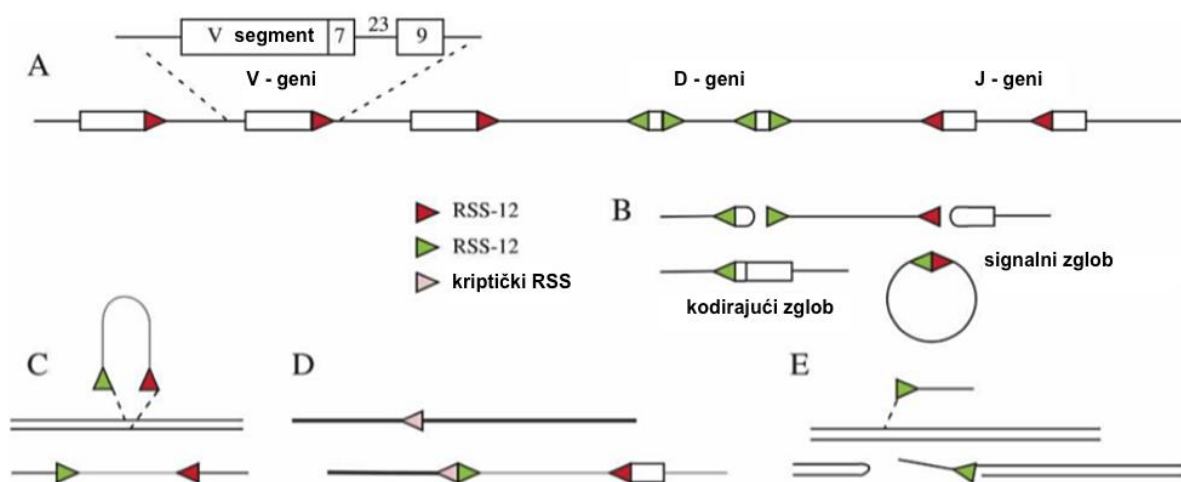


Slika 1. Shematski prikaz građe TCR $\alpha\beta$ (von Boehmer 2005)



Slika 2. Shematski prikaz građe TCR $\gamma\delta$ (Preuzeto i prilagođeno iz http://www.imgt.org/IMGTeducation/QuestionsAnswers/_UK/PosterTRG/imagesTRG.html)

U sintezi varijabilnog dijela lanca α sudjeluju geni V (70 – 80 različitih alela) i geni J (oko 60 različitih alela), a u sintezi konstantnog dijela samo jedan gen C . U procesu preslagivanja i prekrajanja gena, jedan gen V veže se najprije s jednim genom J , a nakon toga se geni VJ vežu s genom C . U sintezi varijabilnog dijela lanca β , uz gene V i J , sudjeluju i geni D (Slika3.).



Slika 3. Shematski prikaz prekrajanja VDJ gena i stvaranje ukosnice. (A) Fragmenti V_H , D_H i J_H gena s pripadajućim signalnim sekvencama za rekombinaciju (RSSs, od eng. *recombination signal sequences*) $IgHC$ lokusa. (B) Intermedijeri rekombinacije (kodirajući krajevi ukosnice i tupi signalni krajevi) i krajnji produkti (kodirajući i signalni zglobovi). (C) Transpozicija RSS intermedijera rekombinacije. (D) Prekrojanje RSS-12 i kriptičkog RSS, što vodi translokaciji. (E) Transesterifikacija RSS i duplkesa DNA. (Schlissel 2005)

Kod lanca β geni V su raspoređeni u jednom skupu (ukupno 52 gena), dok su geni J (ukupno 13 gena), geni D (ukupno 2 gena) i geni C (ukupno 2 gena) raspoređeni u dva skupa. Prekrojanje VDJ gena se odvija na razini DNA. Broj gena V u zametnoj lozi za lance γ i δ znatno je manji (5 – 10) nego za lance α i β (50 – 100), zbog čega je i manja varijabilnost receptora u T–stanicama vrste $\gamma\delta$. U preslagivanju gena sudjeluju enzimi rekombinaze, koji su kodirani genima $RAG1$ i $RAG2$ (Andreis 2004).

Normalne T–stanice pokazuju ekspresiju panT staničnih antigena, molekula na površini T–limfocita, koji mogu biti strukturni glikoproteini, receptori za faktore rasta, adhezijske molekule koje sudjeluju u staničnim reakcijama, a neki se izražavaju na membrani tek poslije aktivacije stanice. Njihova primarna uloga nije biti antigenima, ali ove molekule postaju

antigenima ako se injiciraju u pripadnike druge vrste, jer tada postaju strane molekule i na njih se stvaraju protutijela (Andreis 2004). Najčešći panT stanični antigeni su CD2, CD3, CD5 i CD7. Sve T–stanice eksprimiraju ili CD4 ili CD8, osim rijetkih $\gamma\delta$ T–stanica koje su CD4⁻CD8⁻. Nedostatak bilo kojeg panT staničnog antigena, kao i koekspresija CD4 i CD8 (dvostruko pozitivni) ili nedostatak oba navedena kofaktora (dvostruko negativni) ukazuju na limfoproliferativni proces (Dewar 2015).

U patogenezi T–limfoma dolazi do različitih poremećaja ekspresije protoonkogeni i onkogeni, mutacija *VDJ* gena čija je posljedica nepravilno prekranje gena za T–stanični receptor (Andreis 2004), te poremećene regulacija miRNA koje reguliraju ekspresiju nekih gena (Saki i sur., 2015).

2. SAZRIJEVANJE LIMFOCITA T

T–limfociti potječu od prastanica, T–limfocita iz koštane srži, a sazrijevaju u timusu. Prastanice T–limfocita nemaju karakterističnih biljega T–limfocita, već eksprimiraju membranske adhezijske molekule CD34 i CD44 te receptor za faktor rasta matičnih stanica. U jezgri sadrže enzim terminalnudeoksinukleotidil–transferazu (TdT, od eng. *terminal deoxynucleotidyl transferase*) koja tijekom sazrijevanja sudjeluje u preuredbi gena za antigenski receptor. Dolaskom u timus te stanice postaju timociti, a tijekom sazrijevanja prolaze kroz nekoliko stadija (Andreis 2004).

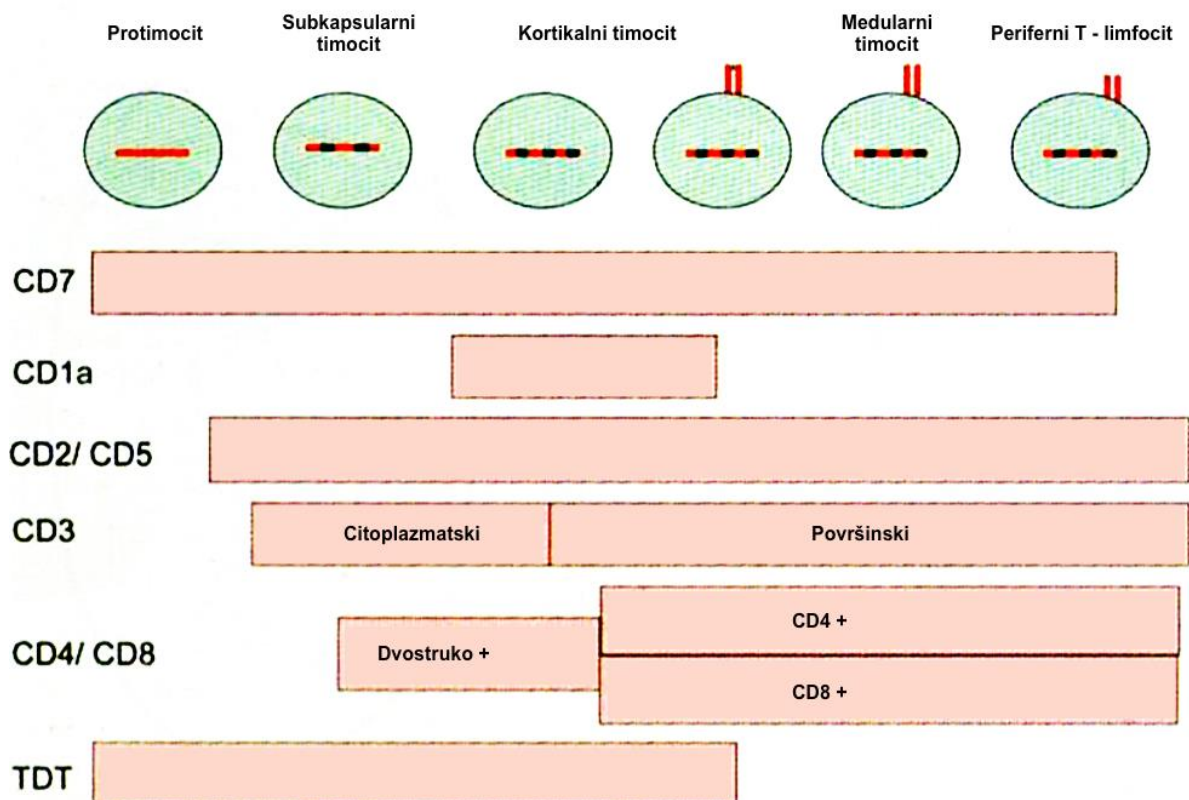
SAZRIJEVANJE LIMFOCITA T– $\alpha\beta$

U prvom stadiju timociti ne eksprimiraju receptor za antigen (TCR), signalnu molekulu CD3 te su CD4⁺ i CD8⁺, a nazivaju se dvostruko negativni timociti. U ovom stadiju započinju eksprimirati receptor za IL2 i proizvoditi proteine RAG1 i RAG2. Proteini RAG1 i RAG2 su kodirani genima *RAG* koji su odgovorni za rekombinaciju gena u kojoj dolazi do preuredbi gena za β lanac antigenskog receptora T–limfocita. Slijedi sinteza lanca β zajedno sa sintezom signalnog kompleksa CD3. Na membrani timocita dolazi do ekspresije lanca β , koji je udružen s privremenim lancem α (pT– α), tvoreći preT receptor (pT– $\alpha\beta$).

Uspješna sinteza preT receptora potiče sintezu koreceptorskih molekula CD4 i CD8. Timociti se u ovoj fazi nazivaju dvostruko pozitivnim stanicama (CD4⁺CD8⁺). Stanice započinju preuredbu pravog α lanca antigenskog receptora te dolazi do stvaranja i eksprimiranja cjelovitog receptora TCR $\alpha\beta$, zajedno sa signalnim molekulama kompleksa CD3. U ovom stadiju stanice prolaze kroz pozitivnu i negativnu selekciju. U pozitivnoj selekciji će preživjeti one stanice čiji receptor prepoznaje i veže slabim afinitetom vlastite peptide u sklopu vlastitih MHC molekula, dok će u negativnoj selekciji odumrijeti one stanice koje u sklopu vlastitih MHC molekula prepoznaju i vežu jakim afinitetom vlastite peptide.

Tijekom pozitivne selekcije, ovisno o skupini molekule MHC za koju se vežu na predložnoj stanici, timociti gube jednu od koreceptorskih molekula te postaju jednostruko pozitivne stanice – CD4⁺CD8⁺ ili CD4⁺CD8⁺.

Nakon kratkog zadržavanja u srži timusa, stanice koje su već zreli, imunokompetentni T–limfociti odlaze u periferne limfne organe. Periferni T–limfociti dijele se u dvije subpopulacije CD4⁺ (pomagački) i CD8⁺ (citotoksični) T–limfociti (Andreis 2004) (Slika 4.).



Slika 4. Shematski prikaz stadija sazrijevanja limfocita T $\alpha\beta$ (Swerdlow 2008).

SAZRIJEVANJE LIMFOCITA T- $\gamma\delta$

Limfociti T $\alpha\beta$ i limfociti T $\gamma\delta$ potječu od zajedničkog pretka, a razdvajanje u zasebne populacije odvija se u stadiju dvostrukonegativnih stanica. Limfociti T $\gamma\delta$ gotovo nikada ne eksprimiraju koreceptore CD4 i CD8. Varijabilnost receptora TCR $\gamma\delta$ znatno je manja nego varijabilnost TCR $\alpha\beta$, zbog daleko manjeg broja gena varijabilne regije i nedostatka enzima TdT. Limfociti T $\gamma\delta$ prepoznaju antigene vezane za CD1 ili ih prepoznaju izravno bez predočne molekule. Češće naseljavaju epitel sluznica nego periferne limfne organe (Andreis 2004).

3. KLASIFIKACIJA TUMORA HEMATOPOETSKIH I LIMFNIH TKIVA SVJETSKE ZDRAVSTVENE ORGANIZACIJE

Najčešće korištena i redovito obnovljana je klasifikacija tumora hematopoetskih i limfnih tkiva Svjetske zdravstvene organizacije (WHO, od eng. *World health organization*) koja se temelji na morfološkim, histološkim i imunofenotipskim razlikama, a obuhvaća i kliničku sliku. Histološka i klinička progresija se često opaža tijekom trajanja bolesti. Također, i morfologija i imunofenotip se često mijenjaju tijekom vremena, kako se limfoidna neoplazma podvrgava klonalnom razvoju sakupljanjem dodatnih genetičkih promjena. Međutim, razvoj tijekom vremena ne vodi nužno razvijanju agresivnijih limfoma te promatranju svakog limfoma treba pristupiti individualno, jer se ne može predvidjeti krajnji ishod.

Klasifikacija limfoidnih neoplazmi se bazira na korištenju svih dostupnih informacija za karakteriziranje pojedinih bolesti. Sama morfologija ili imunofenotip su nedostatni za dijagnozu većine limfoma, a pojedini marker nije specifičan za samo jedan tip limfoma. Stoga je kombinacija morfoloških obilježja i antigenskih markera nužna za ispravnu dijagnozu. Npr. CD30 je univerzalna značajka anaplastičnog velikostaničnog limfoma (ALCL, od eng. *anaplastic large cell lymphoma*), ali može biti eksprimiran i u drugim T–staničnim i B–staničnim limfomima, kao i u Hodgkinovu limfomu (HL, od eng. *Hodkin lymphoma*). Slično, CD56 je značajka NK/T–limfoma nazalnog tipa, no uočen je i u drugim T–limfomima i tumorima plazma stanica (Swerdlow 2008).

LIMFOMI UROĐENOG IMUNOSNOG SUSTAVA

Limfomi urođenog imunosnog sustava većinom se javljaju u ektranodalnim lokalizacijama te utječu na stvaranje funkcionalnih komponenti sustava. Limfomi nastali u djetinjstvu i mladenačkoj dobi porijeklom su većinom stanica urođenog imunosnog sustava (T–limfomi i NK–limfomi). Neki limfomi nastali od stanica urođene imunosti su: agresivna NK–stanična leukemija, sistemska T–stanična proliferativna bolest pozitivna na Epstein-Barrov virus (EBV, od eng. *Epstein-Barr virus*), većina T–limfoma jetre i slezene, $\gamma\delta$ T – limfom i anaplastični limfom velikih stanica, koji je i najčešći T–limfom u djece, a porijekla je citotoksičnih T–limfocita.

Limfociti T $\gamma\delta$ sudjeluju u nespecifičnom imunosnom odgovoru te im je ograničena mogućnost prepoznavanja antigena, a predstavljaju prvu liniju obrane od bakterijskih peptida.

Imaju citolitičko djelovanje, a mehanizam citolitičkih molekula je povezan sa staničnim porijeklom i staničnom funkcijom, npr. u ljudskoj stanici postoji 5 granzima, koji su slični po strukturi, ali se razlikuju u specifičnosti supstrata te kromosomskoj lokaciji gena (Swerdlow 2008). Granzimi su serinske proteaze koje potiču programiranu staničnu smrt ciljane stanice te na taj način potiču i apoptozu tumorskih stanica. Međutim, tumorske stanice imaju mogućnost izlučivanja TGF β koji djeluje imunosupresivno, inhibirajući aktivaciju i proliferaciju preostalih T–limfocita te ekspresiju 5 citotoksičnih gena čija je posljedica razvoj T-limfoma (Cullen 2010).

LIMFOMI ADAPTIVNOG IMUNOSNOG SUSTAVA

Limfomi adaptivnog sustava su još uvijek dosta neistraženi, no poznato je da su često lokalizirani u limfnim čvorovima. Najpoznatiji limfom adaptivnog sustava je ALCL, koji je najčešće kožni i kao takav ima bolju prognozu od drugih sistemskih limfoma.

U angioimunoblastičnom T–limfomu (AITL, od eng. angioimmunoblastic T-cell lymphoma), limfomu adaptivnog imunosnog sustava, je uočena povećana ekspresija CXCL13. CXCL13 je kemokin koji olakšava migraciju T i B stanica ekspimirajući receptor CXCR5.

Regulatorni T–limfociti (T_{reg}) su $CD4^{+}$ stanice čija je funkcija regulatorna, tj. one suprimiraju odgovor imunosnog sustava. Ekspimiraju CD25 i transkripcijske faktore FOXP3 zajedno s CD4. Limfom zrelih stanica (ATLL, od eng. *adult T-cell leukemia/lymphoma*) se povezuje s T_{reg} s obzirom na ekspresiju CD25, FOXP3 i imunosupresijom (Swerdlow 2008).

4. GENETIKA

Rekombinacija *VDJ* gena za TCR receptor nužna je za ispravnu funkciju T–limfocita, a omogućuju ju RAG1 i RAG2 proteini, koji stvaraju urez u dvolančanoj DNA (dDNA). Ukoliko se pri lomu dDNA ne aktivira p53, lom će prepoznati ATM i fosforilirani histon H2AX koji se pozicioniraju na mjesto loma i stabiliziraju ga. U stabilizaciju lomova je uključen i postsinaptički kompleks cijepanja ovisan o RAG-u, koji čine DNA-PK, Ku70, Ku80, XRCC4, DNA ligaza IV, Artemis i Cernunnos. Otvaranje petlje u DNA omogućuje endonukleolitička aktivnost Artemisa, dok segmente kodirajućih krajeva *VDJ* gena povezuje DNA ligaza IV (Schlissel 2005).

Ukoliko nastane mutacija koja uzrokuje inaktivaciju regulatornih mehanizama rekombinacije *VDJ* gena, npr. odsutnost ATM (Petiniot 2002), stabilnost rekombinacije je narušena te mogu nastati kromosomske anomalije, koje su ujedno i karakteristika T–limfoma. Najčešća kromosomska anomalija, ali ne i jedina, je translokacija protoonkogena i *VDJ* gena (Schlissel 2005).

Genomske aberacije koje vode nastanku tumorskih stanica mogu biti potaknute i mutacijama u V_H genima, čija je posljedica nefunkcionalni TCR receptor. Također, prekrajanje mutiranog V_H gena može voditi nastanku CDR3 koji ima kraću duljinu od normalnog (Kienle 2003).

U angioimunoblastičnom T–limfomu uočena je trisomija kromosoma 3 i 5 te prisutnost dodatnog X kromosoma, dok je kod ekstranodalnog NK/T–limfoma nazalnog tipa izostavljena preuredba gena za CD3 (Grywalska 2015).

ALCL karakterizira translokacija na 5. kromosomu (t(2;5)) koja uključuje gen za kinazu anaplastičnog limfoma (*ALK*, od eng. anaplastic lymphoma kinase). $\gamma\delta$ T–limfom selezene i jetre se povezuje s izokromosomom 7q (Swerdlow 2008).

Ukupno, postoji velik broj zabilježenih genetičkih promjena u T-limfomima te se smatra da će se genetičke promjene i dalje otkrivati.

5. PODJELA LIMFOMA ZRELIH T I NK STANICA

Prema podjeli limfoma zrelih T i NK stanica Svjetske zdravstvene organizacije razlikujemo:

a) T-PROLIMFOCITNA LEUKEMIJA

T-prolimfocitna leukemija (T-PLL, od eng. *T-cell prolymphocytic leukemia*) je agresivna T-stanična leukemija karakterizirana proliferacijom malih do srednje velikih prolimfocita koji imaju fenotip zrelih T-stanica. Nalaze se u perifernoj krvi, koštanoj srži, limfnim čvorovima, jetri, slezeni i koži (Swerdlow 2008).

b) LIMFOCITNA LEUKEMIJA VELIKIH GRANULIRANIH STANICA

Limfocitna leukemija velikih granuliranih stanica (T-LGL, od eng. *T-cell large granular lymphocytic leukemia*) je heterogena bolest karakterizirana stalnim porastom broja velikih granuliranih limfocita u perifernoj krvi (Swerdlow 2008).

c) KRONIČNI LIMFOPROLIFERATIVNI POREMEĆAJI NK-STANICA

Kronični limfoproliferativni poremećaji NK-stanica (CLPD-NK, od eng. *chronic NK-cell lymphoproliferative disorder*) su rijetki i vrlo heterogeni te predstavljaju proliferaciju NK-stanica povezanu s kroničnim kliničkim razvojem (Swerdlow 2008).

d) AGRESIVNA NK-STANIČNA LEUKEMIJA

Sistemska neoplastična proliferacija NK-stanica se gotovo uvijek povezuje s EBV i agresivnim kliničkim razvojem bolesti (Swerdlow 2008).

e) EPSTEIN-BARR VIRUS POZITIVNI T-STANIČNI LIMFOPROLIFERATIVNI POREMEĆAJI DJECE

Sistemska EBV+ T-stanična limfoproliferativna bolest djece

Sistemska EBV+ T-stanična limfoproliferativna bolest djece je vrlo progresivna te zahvaća brojne organe. Javlja se u dječjoj i mladenačkoj dobi, a karakterizira ju klonalna proliferacija T-stanica zaraženih s EBV te aktivirani citotoksični fenotip. Bolest se može razviti vrlo kratko nakon primarne (akutne) infekcije s EBV ili u razdoblju kronične infekcije s EBV te je opasna po život. Najčešće rezultira sepsom i smrću (Swerdlow 2008).

T –stanični limfom sličan *Hydroa vacciniforme*

Stanice T-staničnog limfoma sličnog *hydroa vacciniforme* ekspimiraju CD2, CD3, CD4, CD5, CD8, TIA1 i GrB. Također, espresija malih RNA kodiranih Epstein-Barr virusom (EBER, od eng. *Epstein-Barr virus encoded small RNAs*) se može detektirati *in situ* hibridizacijom. Oboljeli su osjetljivi na svjetlo i ugriz kukaca, a dolazi do pojave kožnih lezija, uključujući edema, čireva i krasta te, na posljétku, ožiljaka (Grywalska 2015).

f) LEUKEMIJA/LIMFOM ZRELIH T-STANICA

Leukemiju/limfom zrelih T-stanica često tvore jako pleomorfne limfoidne stanice, a bolest je često uzrokovana ljudskim retrovirusom, tj. virusom ljudske leukemija stanica T tipa 1 (HTLV-1, od eng. *human T-cell leukaemia virus type 1*) (Swerdlow 2008).

g) EKSTRANODALNI NK/T LIMFOM, NAZALNOG TIP A

Ekstranodalni NK/T–limfom (ENKTL, od eng. *extranodal natural killer/T-cell lymphoma*) nazalnog tipa nastaje zbog maligne transformacije NK–stanica, koje ekspimiraju CD2, CD56 i TIA1, u kojoj ne dolazi do preuredbe gena za CD3. Stanice limfoma ekspimiraju EBER i citotoksične granulirane proteine TIA1, granzim B i perforin (Vasile 2014).

ENKTL je karakteriziran kao progresivna, destruktivna i upalna proliferativna bolest, visoke agresivnosti i angiocentričnim te angiodestruktivnim načinom rasta (Grywalska 2015).

h) T-LIMFOM POVEZAN S ENTEROPATIJOM

T-limfom povezan s enteropatijom je crijevni tumor građen od velikih limfoidnih stanica, koji česta prati pojava upale. Crijevna mukoza u blizini tumora pokazuje enteropatiju zbog atrofije crijevnih resica, hiperplazije kripti te povećanja broja limfocita i plazma stanica u lamini proprijji (Swerdlow 2008).

i) T-LIMFOM JETRE I SLEZENE

T-limfom jetre i slezene (HSTL, od eng. *hepatosplenic T-cell lymphoma*) je ekstranodalni i sistemski tumor koji nastaje od citotoksičnih T-stanica, najčešće od $\gamma\delta$ T-stanica. Limfoidne stanice HSTL su srednje veličine te je uočena značajna sinusoidalna infiltracija jetre, slezene i koštane srži (Swerdlow 2008).

j) T-LIMFOM SLIČAN SUBKUTANOM PANIKULITISU

Primarne kožne T–limfome razlikujemo prema morfološkim i imunohistokemijskim obilježjima, a potkožni panikulitis T–limfoma (SPTCL, od eng. *subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma*) je jedan od njihovih rijetkih oblika. Prema WHO klasifikaciji iz 2008. godine SPTCL su isključivo $\alpha\beta$ T–stanice. Karakterističan imunohistokemijski profil je $CD3^+$, $CD8^+$, ekspresija citotoksičnih markera (npr. granzim B, TIA1 i perforin), $\alpha\beta$ receptor i u najvećem broju slučajeva $CD56^-$ (Dewar 2015).

k) MYCOSIS FUNGOIDES

Mycosis fungoides (MF od lat. *Mycosis fungoides*) jedan je od najčešćih kožnih T–limfoma. Imunohistokemijski je karakteriziran s $CD3^+$, $\beta F1^+$, $CD4^+$, $CD5^+$ i $CD8^-$. Često im nedostaje $CD7$, što nije normalno s obzirom da imaju $\alpha\beta$ T–pomoćnički/memorijski fenotip. Vrlo visoki omjer $CD4:CD8$ u epidermalnom tkivu je povezan s MF (Dewar 2015). Također, uočena je odsutnost ili redukcija ekspresije $CD26$, dok ekspresija $CD25$ varira (Dewar 2015).

Opisani su i dvostruko pozitivni i dvostruko negativni MF. $CD8^+$ oblici se pojavljuju u djece i u hipopigmentiranim lezijama, a prognostički su slični uobičajenim $CD4^+$ MF.

U stadijima plaka ili tumora ili s velikim staničnim transformacijama uočena je povećana ekspresija $CD30^+$ stanica. Citotoksični markeri, poput TIA1, mogu ukazati na uznapredovale stadije limfoma (Dewar 2015).

l) SEZARYEV SINDROM

Sezaryjev sindrom je rijetka bolest, koja može biti karakterizirana T–limfomom, a zahvaća kožu, limfne čvorove i perifernu krv. Tumorske stanice eksprimiraju $CD3$ i $CD4$. Stanice periferne krvi često gube T–stanične antigene, najčešće $CD7$ i $CD26$, a u nekim slučajevima i $CD2$, $CD3$, $CD4$ i $CD5$. Ekspresija antigena PD1 pokazala se pouzdanim dijagnostičkim markerom Sezaryjevog sindroma (Dewar 2015).

m) PRIMARNE $CD30^+$ LIMFOPROLIFERATIVNI BOLESTI KOŽE

Primarni kožni $CD30^+$ T–stanični limfoproliferativni poremećaji su, uz MF, jedan od najčešćih tipova kožnih T–limfoma, npr. limfomatoidna papuloza (LyP, od eng.

lymphomatoid papulosis) i kožni anaplastični velikostanični limfom (C–ALCL, od eng. *cutaneous anaplastic large cell lymphoma*).

Histološki, C–ALCL često pokazuje proliferaciju srednjih u velike anaplastične stanice te je obično oskudan u epidermisu. Stanice lezije karakterizira CD30⁺, čija se ekspresija povećava rastom tumora, a često su i CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ i CD15⁺ fenotipa.

Limfomatoidna papuloza eksprimira CD4 i CD30. Opisana su četiri slična histološka obrasca (A, B, C i D). B LyP je nalik na MF, no bubuljice u B LyP su blijede te spontano nestaju ostavljajući ožiljke (Chaudhari i sur., 2010). LyP karakteristično eksprimira CD8 fenotip.

Otpribliže, trećina limfomatoidnih papuloza ili CD30⁺ limfoproliferativnih poremećaja eksprimira citotoksične markere, poput TIA1. U rijetkim slučajevima i C–ALCL i LyP mogu ekspimirati CD56 i druge NK–stanične markere (Dewar 2015).

n) PRIMARNO KOŽNI PERIFERNI T-LIMFOMI, RIJETKI TIPOVI

Primarni $\gamma\delta$ T-stanični limfom kože

Primarni $\gamma\delta$ T–stanični limfom kože klinički je vrlo agresivan, a karakteriziraju ga aktivirane citotoksične T–stanice s različitom morfoloijom, ekspresijom CD3, CD2, CD56, citotoksičnih proteina (TIA1 i granzim) i $\gamma\delta$ fenotipom, dok nema ekspresije CD5, CD7, CD4, CD8 i β F1 (Dewar 2015).

Primarno kožni CD8⁺ agresivni epidermotropični T-stanični kožni limfom (Bertijev limfom)

Bertijev limfom je vrlo agresivan T–limfom s citotoksičnim fenotipom. Za razliku od MF, stanice Bertijevog limfoma su CD8⁺, a za razliku od $\gamma\delta$ T–limfoma, stanice ekspimiraju β F1, što ukazuje na TCR $\alpha\beta$ fenotip. Stanice ekspimiraju CD3, β F1, CD7, CD8 i citotoksične proteine TIA1 i granzime, dok je uočen nedostatak CD2, a još češće CD5 (Dewar 2015).

Primarni kožni CD4+ limfom malih do srednje velikih T-stanica

Većinu lezija čine neuobičajene stanice male do srednje veličine koje su CD4⁺CD8⁻ te ne ekspresiraju druge citotoksične markere. Često je uočen marker T-pomoćničkih stanica, PD1 (Dewar 2015).

o) PERIFERNI T-LIMFOM, NOS

Periferni T-limfom, NOS (NOS, od eng. *not other specified*), je heterogena skupina nodalnih i ektranodalnih zrelih T-staničnih limfoma koji ne odgovaraju niti jednom tipu zrelih T-limfoma koji su do klasificirani pomoću neke specifične karakteristike. Karakterizira ih neuobičajen fenotip T-stanica i reducirana ekspresija CD5 i CD7 antigena.

U nodalnim lokalizacijama prevladava CD4⁺/CD8⁻ fenotip, no može se uočiti i CD4/CD8 dvostruko pozitivni ili dvostruko negativni, kao i CD4⁻/CD8⁺ i CD56⁺ fenotip te ekspresija citotoksičnih granula. Često je prisutna ekspresija CD20 i CD79a, dok za razliku od AITL, nedostaje fenotip folikularnih pomoćničkih T-stanica (CD10⁺, BCL6⁺, PD1⁺ i CXCL13⁺).

U usporedbi s normalnim T-limfocitima, tumorske stanice karakterizira periodična deregulacija gena važnih za osnovne stanične funkcije, npr. organizaciju citoskeleta, adheziju stanica, apoptozu, proliferaciju, transkripciju i prijenos signala. Produkti navedenih gena mogu biti od važni kod odabira terapijskih meta (Swerdlow 2008).

p) ANGIOIMUNOBLASTIČNI T-LIMFOM

Angioimunoblastični T-limfom, klinički je vrlo heterogena bolest, u kojoj su uočene regresije i progresije koje na kraju mogu završiti smrću. Morfološki, uočena je difuzija stanica limfoma sa zadržavanjem abnormalnih folikula u limfnim čvorovima. Fenotip stanica je CD2⁺, CD3⁺, CD4⁺, CD10⁺, CXCL13⁺, PD1⁺, a ponekad i BCL6⁺. Imunoblasti često ekspresiraju CD20 i EBER (Grywalska 2015).

r) ANAPLASTIČNI VELIKOSTANIČNI LIMFOM, ALK+

Limfoidne stanice anaplastičnog velikostaničnog limfoma koji ekspresira ALK su pleomorfne i imaju obilnu citoplazmu s jezgrom u obliku potkove. Prisutna je translokacija gena *NPM-ALK* i ekspresija antigena CD30. U velikim limfoidnim stanicama, protein ALK uočen je i u citoplazmi i u jezgri, dok je u malim stanicama uočen samo u jezgri.

ALCL, ALK⁺ zahvaća limfne čvorove i ekstrapodalne lokalizacije, uključujući kosti, kožu, meko tkivo, pluća i jetru (Swerdlow 2008).

s) ANAPLASTIČNI VELIKOSTANIČNI LIMFOM, ALK-

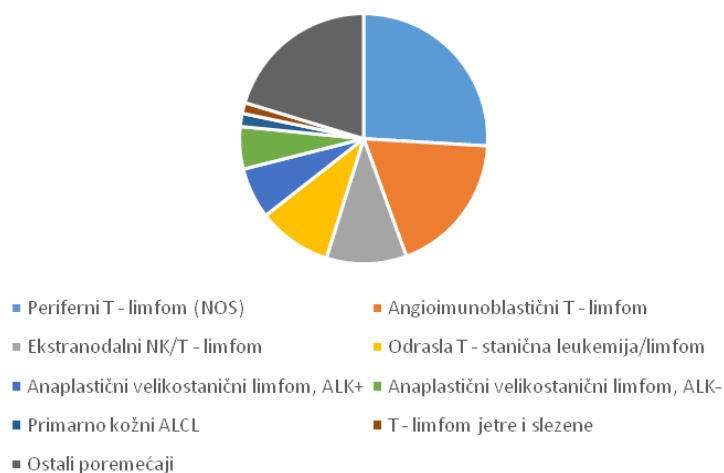
Anaplastični velikostanični limfom, koji ne eksprimira ALK, zahvaća limfne čvorove i ekstrapodalne lokalizacije, dok druge lokalizacije, za razliku od ALCL, ALK⁺, zahvaća u znatno manjem broju slučajeva. Definiran je kao CD30⁺ T-stanični limfom, koji se po morfološkim karakteristikama ne razlikuje od ALCL, ALK⁺. Stanični markeri su uglavnom, jakog i jednakog intenziteta u svim stanicama. Ovo svojstvo je važno za razlikovanje ALCL, ALK⁻ od ostalih PTCL koji ekspimiraju CD30, ali u manjoj mjeri te je intenzitet staničnih markera varijabilan (Swerdlow 2008).

6. EPIDEMIOLOGIJA

Neoplazme T–stanica i NK–stanica čine 12% svih nehodgkinskih limfoma. Najčešći tip zrelih T–limfoma je periferni T–limfom koji nije dodatno specificiran (NOS, od eng. *not otherwise specified*) (25,9%) i angioimunoblastični T–limfom (18,5%), dok su ostali tipovi manje učestali (Slika 5.).

Postoje varijacije u učestalosti limfoma T–stanica i NK–stanica obzirom na geografski položaj i rasu. T–limfomi su najčešći u Aziji. Jedan od glavnih faktora rizika za T–limfom u Japanu je virus HTLV1. U endemskim područjima jugozapadnog Japana, seroprevalencija HTLV1 je 8 – 10 % (omjer vremena u kojem postoji rizik da pojedinac oboli od ATLL i njegovog životnog vijeka). Ukupno vrijeme rizika u vremenu života za razvoj ATLL je 6,9% za seropozitivne muškarce, a 2,9% za seropozitivne žene. U području Karipskih zaljeva, seroprevalencija HTLV1 je visoka, a u tom području većinom žive pripadnici crne rase te je incidencija (broj novih slučajeva bolesti u određenoj populaciji tijekom određenog vremena) T–limfoma na Karibima visoka.

Neoplazme NK–stanica i T–stanica povezane s EBV su puno češće prisutne u Azijata, odnosno u pripadnika žute rase nego u pripadnika ostalih rasa. U Hong Kongu nazalni tip NK/T–limfoma je jedan od najčešćih tipova, a javlja se u 8% populacije oboljelih od NK/T–limfoma. Suprotno tomu, u Europi i Sjevernoj Americi ova bolest se pojavljuje u manje od 1% slučajeva svih limfoma. Druge populacije koje imaju povećani rizik razvoja NK/T–limfoma su potomci Indijanaca u Središnjoj i Južnoj Americi i Meksikanci, obzirom da su genetički povezani s Azijatima (Swerdlow 2008).



Slika 5. Relativna učestalost T–limfoma zrelih T–limfocita u populaciji odraslih (Swerdlow 2008)

7. ZAKLJUČAK

T-limfomi su vrlo heterogena skupina limfoma za koje još uvijek ne postoji jednoznačan dijagnostički marker. Znanje o njihovoj patobiologiji je opsežno, no i dalje nedovoljno za svrhovito liječenje bolesti pa je potrebno pronaći biološke procese na temelju kojih bi se mogle razviti terapije za ciljano, specifično liječenje ovih bolesti.

8. LITERATURA

- Andreis I, Batinić D, Čulo F, Grčević D, Marušić M, Taradi M, Višnjić D, 2004. Imunologija, Medicinska naklada, Zagreb.
- von Boehmer H, 2005. Unique features of the pre-T-cell receptor alpha-chain: not just a surrogate. *Nature Reviews Immunology* **5**, 571-577.
- Chaudhari PR, Emanuel P, Levitt J, 2010. Type B follicular lymphomatoid papulosis. *Cutis* **85**, 307-311
- Cullen SP, Brunet M, Martin SJ, 2010. Granzymes in cancer and immunity. *Cell Death Differ.* **17**, 616-623.
- Dewar R, Andea AA, Guitart J, Arber DA, Weiss LM, 2015. Best practices in diagnostic immunohistochemistry: workup of cutaneous lymphoid lesions in the diagnosis of primary cutaneous lymphoma. *Arch Pathol Lab Med.* **139**, 338-350
- Grywalska E, Rolinski J, 2015. Epstein-Barr virus-associated lymphomas. *Semin Oncol.* **42**, 291-303.
- Kienle D, et al., 2003. V_H mutation status and VDJ rearrangement structure in mantle cell lymphoma: correlation with genomic aberrations, clinical characteristics, and outcome. *Blood* **102**, 3003-3009.
- Petiniot LK, et al., 2002. RAG-mediated V(D)J recombination is not essential for tumorigenesis in Atm-deficient mice. *Mol Cell Biol.* **22**, 3174-3177.
- Saki N, Abroun S, Soleimani M, Hajizamani S, Shahjahani M, Kast RE, Mortazavi Y. 2015. Involvement of MicroRNA in T-Cell Differentiation and Malignancy. *IJHOSCR* **9**, 33-49.
- Schlissel MS, Kaffer CR, Curry JD, 2005. Leukemia and lymphoma: a cost of doing business for adaptive immunity. *Genes & Dev.* **20**, 1539-1544.
- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW, 2008. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Fourth Edition. International Agency for Research on Cancer, Lyon.

Vasile D, Vladareanu AM, Bumbea H, 2014. Peripheral T and NK Cell Non-Hodgkin Lymphoma a Challenge for Diagnosis. *Maedica* (Buchar) **9**, 104–108.

9. SAŽETAK

T–limfomi su tumori nastali od vlastitih izmijenjenih T–limfocita. Tipovi T–limfoma se međusobno teško razlikuju ukoliko se ne klasificiraju pomoću više, npr. razlike u morfološkoj strukturi zahvaćenog tkiva, imunofenotipu i histokemijske razlike. Poremećen regulatorni mehanizam rekombinacije VDJ gena je najvjerojatnije jedan od prvih i glavnih uzročnika razvoja T–limfoma, osim u malom broju slučajeva kada nastane funkcionalni triplet koji donosi veću varijabilnost TCR-a. U većini slučajeva nastane nefunkcionalni triplet ili stop kodon.

T–limfome najčešće karakteriziraju translokacije, no mogu nastati i zbog delecije, ili mutacije u genomu čija je posljedica promijenjena ekspresija panT antigena. Takve stanice su nefunkcionalne i ukoliko ne nastupi programirana stanična smrt nastaju T–limfomi.

Smatra se da virusi, npr. EBV, HIV i HTLV1, imaju značajan utjecaj na nastanak T–limfoma. Uočena je povezanost u učestalosti T–limfoma i geografskog položaja gdje je pojedini tip virusa zastupljeniji.

Uzevši u obzir crnu, bijelu i žutu rasu, tipovi T–limfoma su različito zastupljeni, što se povezuje sa genetskim sličnostima unutar rase, odnosno razlikama između rasa.

10. SUMMARY

T-cell lymphoma is a type of cancer developed from its own altered T-lymphocytes. Types of T-cell lymphoma are difficult to differentiate unless they are classified using multiple properties, e.g. differences in morphological structure of the affected tissue, immunophenotype and histochemical differences. Disrupted regulatory mechanism of VDJ genes recombination is probably one of the first and major causes of the T-cell lymphoma development. In rare cases the cause is the occurrence of a functional triplet, which brings in higher variability of the TCR, instead of a non-functional triplet or a stop codon.

T-cell lymphoma is most often characterised by translocations, but it can be also developed by deletion or genome mutation resulting in changed expression of the panT antigen. These kind of cells are non-functional and if a programmed cellular death does not happen, the T-cell lymphomas develop.

It is considered that viruses, e.g. EBV, HTLV1 and HIV have significant influence on the T-cell lymphoma formation. A correlation between the frequency of T-cell lymphoma appearance and geographic location is also perceived.

Considering black, white and Asian races, T-cell lymphoma types have different occurrence that is linked to genetic similarities within a particular race as well as to differences between those races.